

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **09241637 A**

(43) Date of publication of application: **16.09.97**

(51) Int. Cl

C09K 15/34
A23L 3/3481
A61K 31/19
A61K 31/195
A61K 35/78
A61K 38/00
A61K 45/06
B01J 20/22
C09K 3/00

(21) Application number: **08057678**

(22) Date of filing: **14.03.96**

(71) Applicant: **CHUGAI PHARMACEUT CO LTD**

(72) Inventor: **OKUBO KAZUYOSHI**
YOSHIKI YUMIKO

(54) **COMPOSITION FOR REMOVING ACTIVE
OXYGEN FREE RADICAL AND REMOVAL
THEREOF**

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a composition capable of removing active oxygen free radicals causing injurious actions such as cytotoxicity and preventing and reducing various disorders such as oxidative stress or aging by combining an active oxygen free radical scavenger with a specific component.

SOLUTION: This composition comprises (A) an active oxygen free radical scavenger (e.g. preferably catechins or a tannin-polyphenol) and (B) one or more substances selected from uronic acids (e.g. D-glucuronic acid), uronides (e.g. polyuronide-polysaccharides), mucopolysaccharides (e.g. hyaluronic acid) and amino acid-peptides (e.g. an oligopeptide comprising about 2 to several amino acids).

COPYRIGHT: (C)1997,JPO

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-241637

(43) 公開日 平成9年(1997)9月16日

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C09K 15/34			C09K 15/34	
A23L 3/3481			A23L 3/3481	
A61K 31/19	ADS		A61K 31/19	ADS
31/195			31/195	
35/78	AED		35/78	AED X
審査請求 未請求 請求項の数34 O L (全12頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平8-57678

(22) 出願日 平成8年(1996)3月14日

(71) 出願人 000003311

中外製薬株式会社

東京都北区浮間5丁目5番1号

(72) 発明者 大久保 一良

宮城県仙台市青葉区昭和町3丁目40番地20
6号

(72) 発明者 吉城 由美子

宮城県仙台市青葉区宮町2丁目1番地78号

(74) 代理人 弁理士 湯浅 恭三 (外6名)

(54) 【発明の名称】 活性酸素ラジカル除去用組成物およびその方法

(57) 【要約】

【課題】 活性酸素ラジカルに対する高感度かつ効率的な除去促進方法およびその組成物を提供すること。

【解決手段】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質を含有することを特徴とする、活性酸素ラジカル除去用組成物を活性酸素ラジカルの除去に用いる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、組成物。

【請求項 2】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、活性酸素ラジカル除去用組成物。

【請求項 4】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 3 に記載の活性酸素ラジカル除去用組成物。

【請求項 5】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質とを用いることを特徴とする、活性酸素ラジカル除去方法。

【請求項 6】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 5 に記載の活性酸素ラジカル除去方法。

【請求項 7】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、酸化防止剤。

【請求項 8】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 7 に記載の酸化防止剤。

【請求項 9】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、酸化防止方法。

【請求項 10】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 9 に記載の酸化防止方法。

【請求項 11】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸

・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、老化防止剤。

【請求項 12】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 11 に記載の老化防止剤。

10 【請求項 13】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、老化防止方法。

【請求項 14】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 13 に記載の老化防止方法。

20 【請求項 15】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、品質劣化防止剤。

【請求項 16】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 15 に記載の品質劣化防止剤。

30 【請求項 17】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、品質劣化防止方法。

【請求項 18】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 17 に記載の品質劣化防止方法。

40 【請求項 19】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、腐敗防止剤。

【請求項 20】 活性酸素ラジカルスカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 19 に記載の腐敗防止剤。

50 【請求項 21】 活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、腐敗防止方法。

【請求項 2 2】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 2 1 に記載の腐敗防止方法。

【請求項 2 3】 活性酸素ラジカalsカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、汚濁防止剤。

【請求項 2 4】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 2 3 に記載の汚濁防止剤。

【請求項 2 5】 活性酸素ラジカalsカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、汚濁防止方法。

【請求項 2 6】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 2 5 に記載の汚濁防止方法。

【請求項 2 7】 活性酸素ラジカalsカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、消臭剤。

【請求項 2 8】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 2 7 に記載の消臭剤。

【請求項 2 9】 活性酸素ラジカalsカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、消臭方法。

【請求項 3 0】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 2 9 に記載の消臭方法。

【請求項 3 1】 活性酸素ラジカalsカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有することを特徴とする、鮮度保持剤。

【請求項 3 2】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 3 1 に記載の鮮

度保持剤。

【請求項 3 3】 活性酸素ラジカalsカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする、鮮度保持方法。

【請求項 3 4】 活性酸素ラジカalsカベンジャーがカテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類およびサポニン類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質である、請求項 3 3 に記載の鮮度保持方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】 本発明は活性酸素ラジカル (active oxygen radical) に対する高感度かつ効率的な除去促進方法、その組成物および当該組成物の用途に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】 活性酸素ラジカルは、単に活性酸素あるいはフリーラジカルとも称され、不安定な対電子を持つ反応性に富んだ原子や分子であり、更に 1 電子を取り込むかあるいは逆に与えることにより安定性を保とうとする。一般には、スーパーオキシド ($\cdot O_2^-$)、ヒドロキシラジカル ($HO\cdot$)、過酸化水素 (H_2O_2)、一重項酸素 (1O_2) の 4 種をさして活性酸素と呼んでいる。その他に、ヒドロペルオキシラジカル ($HOOO\cdot$)、ペルオキシラジカル ($LOOO\cdot$)、アルコキシラジカル ($LO\cdot$) なども広い意味で活性酸素と考えられ、これらは活性酸素種やラジカル種と呼ばれている。

【0 0 0 3】 活性酸素ラジカルからは、新たな活性酸素ラジカルが二次、三次的に産生されて加速度的に増加し、細胞や DNA の損傷、脂質の過酸化等を引き起こして多くの疾患に関与することが近年明らかになってきた。なかでもヒドロキシラジカル ($HO\cdot$) は最も反応性が高く、細胞損傷など障害作用の大きな活性酸素ラジカルであることが明らかにされている (二木悦雄 (1988) *Mebio.*, 5, 22-26)。紫外線 (UV) による皮膚等での炎症発生においても、ヒドロキシラジカル ($HO\cdot$) 産生とその関与が確認されている。ウィルスの感染もまた、感染者の過剰な免疫応答の結果として、活性酸素ラジカルが生体バランス維持の必要量以上に生成され、有害な作用を与える (T. Oda (1989) *Science*, 244, 974-976)。

【0 0 0 4】 かような生体での活性酸素ラジカルによる障害に対し、スーパーオキシド・デスムターゼ (SOD) やカタラーゼなどの酵素にて、またアスコルビン酸やグルタチオンなどの抗酸化作用成分を用いる除去方法については、薬理学的観点から幅広く研究課題とされ、数多くの報告がなされている。

【0005】また、活性酸素ラジカルは、生体へ悪影響を及ぼすばかりでなく、食品その他における品質劣化の引き金となったり加速したりすることは、著名な事実として知られているところである。

【0006】最近、活性酸素ラジカルを除去するいわゆる活性酸素ラジカルスカベンジャー成分に関し、各種のフラボノイド類およびそれらの関連成分（カテキン、ケルセチン、ケンフェロール、ミリセチン、ルチン、アントシアニン、ポリフェノール、他）やサポニン類など、食素材に由来し、これまであまり顧みられていなかった天然成分についての研究に多くの注目と期待が集められている。

【0007】例えば、緑茶中の天然成分であり、化学構造にガロイル(galloyl)残基を有するフラバン-3-オール型のカテキン類では、活性酸素ラジカルによるDNAの破壊(T. Nakayamaら(1993) Biosci. Biotech. Biochem., 57, 174-176)、脂質の過酸化(T. Arigaら(1990) Agric. Biol. Chem., 54, 2499-2504)、酸化的細胞損傷(T. Nakayamaら(1993) Biochem. Pharmacol., 45, 265-267)に対し、各々いずれも阻止効果を示し、従ってラジカルスカベンジャー作用を有することが報告されている。

【0008】しかし、これらカテキン類のラジカルスカベンジャー作用について、効果の大きな食い違いや矛盾した否定的評価も一方では報告されている(例えば、F. H. Stich(1991) Mutat. Res., 259, 307-324)。すなわち、in vitro実験によると、ラジカルスカベンジャー作用を有する一方で、処理し切れなくなったかあるいは取り込み過ぎた活性酸素ラジカルが逆に放出されるかの如く、ある時点でかえって障害の促進(アクセレーター)にまわることが観察されているためである。

【0009】カテキン類が緑茶の主要成分として、古来より日本や中国など広い地域で多くの人々に愛飲され続けており、これまで善玉としての有用性をもって幅広く利用されてきたものが、in vitro実験とはいえども悪玉としての側面が示されたことから、本発明者らは、その「両刃の剣」としての作用メカニズムの解明および当問題の解決に鋭意取り組んできた。なお、ビタミンCとE、β-カロチンとリコピンのように、複数の抗酸化作用成分を組み合わせることで個々の作用が相加的または相乗的に高まることは経験的に言われているが、これらの成分においても、カテキン類の場合と類似した「両刃の剣」としての側面が知られるようになり、作用メカニズムの解明は未だなされていない。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは一方で、活性酸素ラジカルは消失反応を簡便かつ精度高く分析で

きる方法の開発に取り組んできた。その方法は、活性酸素ラジカルは消失時に微弱発光するかのように観察されるフォトン放出の高感度測定に基づいたものであるが、最近におけるESR-トラッピング法や酵素法に優るとも劣らぬ高精度を有していながら、これらより極めて簡便で、しかも抗酸化作用など紛らわしい類似反応や共存他成分の影響を受け難い測定法である(Y. Yoshikiら(1995) Phytochemistry, 39, 225-229)。

【0011】本測定法により、活性酸素ラジカルは代表例として過酸化水素(H₂O₂)あるいはFenton反応で生成するヒドロキシラジカル(HO・)に、活性酸素ラジカルを除去するとみなされている成分の代表例として各種フラボノイド類やそれらの関連成分を水相系にて作用させ、フォトン放出の強度を調べた。フラボノイド類はC6-C3-C6を基本骨格とするフェノール系化合物の総称で4,000種をこえるといわれるが、カテキン、ケルセチン、ケンフェロール、ミリセチン、ルチン、アントシアニンなど、その化学構造のC-3、-5、-7、またB-環と称されるベンゼン環のC-3'、-4'、-5'位に水酸基を有し、あるいは更に糖など結合しているものほど、活性酸素ラジカルへ作用させたときのフォトンが放出され易く、従って活性酸素ラジカルに対する除去作用が高い傾向を、本発明者らは捉えて既に発表した(Y. Yoshikiら(1995) Phytochemistry, 39, 225-229)。

【0012】本発明者らはこれらの研究を進展させ、活性酸素ラジカルを除去するとみなされている上記化合物(活性酸素ラジカルスカベンジャー)と単独では活性酸素ラジカルに対する除去作用を認め難かったアルデヒドやアミノ酸、ウロン酸(酸性糖類)などの物質とを共存させたところ、フォトン放出が顕著に増加することを観察した。そして、これら顕著な増加は、活性酸素ラジカルは除去が大きく促進されたためであることを確かめた。

【0013】本発明者らは更に多くの検証を重ねたところ、活性酸素ラジカルスカベンジャーは、活性酸素ラジカルを自己消化できるラジカルスカベンジャー作用を少なからず持つはいるが、アルデヒドやアミノ酸、ウロン酸などの特定成分が共存していれば、自ら引き寄せた活性酸素ラジカルをこのような特定成分へ積極的に受け渡す、いわゆる触媒種のような存在になっていると推察された。また、上記特定成分の方は、単独では自ら活性酸素ラジカルを処理する直接作業能力には乏しいものの、活性酸素ラジカルを活性酸素ラジカルスカベンジャーから触媒的に引き渡されれば容易に受け取って処理することができる受容種のような存在になっていると推察された。

【0014】これらの推察に従って、活性酸素ラジカ

ル、触媒種としての活性酸素ラジカルスカベンジャーおよび受容種としての特定成分について、更に多くの種類と組合せ、および濃度、pH等を種々検討し、各々におけるフォトン放出の測定結果に基づいて、活性酸素ラジカルに対する除去効果の評価および作用メカニズムの解析を行った。

【0015】その結果、活性酸素ラジカルの消失反応において、活性酸素ラジカルスカベンジャーと、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分との組合せが存在すること

を解明した。

【0016】更に、フォトンとの間において次の関係式

$$\text{式} \quad [P] = k [X] [Y] f (Z)$$

ここに、[X]は活性酸素ラジカルの濃度、[Y]は活性酸素ラジカルスカベンジャーの濃度、f[Z]は活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分の濃度、[P]は活性酸素ラジカルの消失反応時に微弱発光するかのように観察されるフォトン放出の強度、およびkはフォトン定数（主として活性酸素ラジカルスカベンジャーと活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分の組合せによる活性酸素ラジカル処理能力を反映している）を示す。

【0017】

【課題を解決するための手段】上記法則の相関関係を満足させる活性酸素ラジカルスカベンジャーと活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分との組合せを利用することにより、活性酸素ラジカルに対する除去機能が著しく高められ、また活性酸素ラジカルスカベンジャーが単独である場合に起き易いラジカルスカベンジャー作用の「両刃の剣」としてのマイナス面を回避あるいは著しく軽減させることが可能であることを見だし本発明を完成した。

【0018】本発明は活性酸素ラジカル処理能力に優れた組成物、およびこの組成物を用いて活性酸素ラジカルを除去する方法を提供することを目的とする。

【0019】すなわち、本発明は、活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質を含有することを特徴とする組成物を提供する。

【0020】また、本発明は、活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質を含有することを特徴とする活性酸素ラジカル除去用組成物を提供する。

【0021】更に本発明は、活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およ

びアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質とを用いることを特徴とする、活性酸素ラジカル除去方法を提供する。

【0022】更に本発明は、活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質を含有することを特徴とする酸化防止剤、老化防止剤、品質劣化防止剤、腐敗防止剤、汚濁防止剤、消臭剤および鮮度保持剤を提供する。

【0023】更にまた、本発明は、活性酸素ラジカルスカベンジャーと、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質を含有する組成物を用いることを特徴とする酸化防止方法、老化防止方法、品質劣化防止方法、腐敗防止方法、汚濁防止方法、消臭方法および鮮度保持方法を提供する。

【0024】酸化、老化、品質劣化、腐敗、汚濁、消臭および鮮度低下において、活性酸素ラジカルの関与が、これら発現および悪性化機構の重大要因の一つとして指摘されており、その結果、健康障害、疾病発症、生理機能低下、美容外観の退化、商品価値低下、生産性低下、生活環境や自然環境の汚染など、深刻なダメージをもたらすきっかけを与えている。このことはまた、疾病が起き易く治り難いといった不安と医療コスト増大、生産や流通等におけるロスと割高なコストといった産業上の損失をもたらす一因ともなる。活性酸素ラジカルがむしろ関与した方が望ましいとする例は、殺菌、消毒、漂白といった場合においてであって、極めて限られており、殆どの場合には有害な結果を生じさせる。本発明は、これら活性酸素ラジカルに起因した問題発生に、最も効率的かつ低コストで応用範囲が広い解決の手段を提供するものである。

【0025】生体においては、活性酸素ラジカルに急激または多量に曝される例は、手術時の急な血液再循環、全身的な大火傷、潜水時急浮上の肺気腫など限られた場合においてであり、殆どの場合には僅かな量が火ダネとなつてやがて増加し害をもたらすようになる。

【0026】生体の新陳代謝過程や老廃物の蓄積、直射日光および紫外線や放射線に曝された時、発癌性および変異原性物質や重金属と接した時、火傷やウイルス感染を受けた時、切傷や細胞破壊を被った時など、正常状態もしくは不活性状態の酸素や酸素分子含有化合物等が活性化され、更にはラジカル化される機会は多種多様に存在している。また活性酸素ラジカルを帯びた飲食物や飼料、タバコのけむり、煤煙排気ガス、塩素系有機溶剤などに曝された場合も、これらからの直接的ラジカル作用を受けるだけでなく、生体側においても活性酸素ラジカルの生成が惹起あるいは誘導されてくる。当初において活性酸素ラジカルの生成量は極めて僅かで部分的ではあつても、その生成が正常域をこえて持続しまたは生成後

除去しきれず残存した状態が継続するにつれて、次第にそして加速度的に増加して行き、上記例の様な悪影響を発現し始める。

【0027】従って、活性酸素ラジカルは、その生成と影響力が連鎖的に増大して行くという点で、酸化還元反応など通常の化学反応（非ラジカル反応）や酵素反応とはダメージの与え方を異にする。つまり、知らず知らずのうちに生理機能低下や退化等が潜行して行き、やがてある時突然現れるかの如く急速的にしかも大きなダメージを伴って発現してくる経過を、多くの場合たどる。

【0028】ヒトの疾病を例にとるならば、糖尿病（特にインシュリン非依存型）、肝硬変（特に脂肪肝型）、狭心症など循環器疾患（特に動脈硬化型）、痴呆症（特に脳梗塞型）、悪性腫瘍（主に化学発癌）などでは、活性酸素ラジカルによる慢性的な酸化ストレス負荷が発症機構に関与している主要な要因といわれ、多くの慢性疾患で認められている。また加齢（高齢化）や体力消耗による生理機能低下、激しい動作の連続による新陳代謝や呼吸の異常亢進、栄養バランスや摂取量の過不足、睡眠や運動の不足においては、老化および退化あるいは疲労といった現象となって現れる。これらにおいては、代謝老廃物が蓄積され易くなったり、細胞組織や皮膚等の再生不良および機能低下と共に、活性酸素ラジカルの生成あるいは残存蓄積が増加して認められており、症状促進や回復遅延の一大要因をなしている。

【0029】ヒト以外の動物および植物を例にとるならば、活性酸素ラジカルの生成過剰や残存蓄積あるいは暴露が、ヒトでの例と同様に種々の健康障害あるいは生育障害をもたらすばかりでなく、それらの結果として、家畜飼育、ペット繁殖、水産養殖や植物栽培の産業においては、搾乳量低下、肉質および肥育率低下、産卵率低下、脱毛など毛並み不良、繁殖育成効率低下、病害虫被害の受難度増大、鑑賞価値低下、栽培収穫量や養殖水揚げ量およびこれらの質の低下など、生産性低下や商品価値低下を招くことにもつながる。

【0030】飲食物や飼料それ自体を例にとるならば、紫外線等への暴露による活性酸素ラジカル生成、活性酸素ラジカルを帯びた原料等の混入、活性酸素ラジカル原料であり製造過程での殺菌消毒および漂白に使用される過酸化水素の残留によって、ビタミンなど栄養成分や食効成分の分解、油脂含有および使用のものでは油脂分解やエマルジョン崩壊、色素含有および使用のものでは退色や変色、生鮮ものでは傷口等からの変敗、またこれらに伴って不快臭や食味食感減退が加速度的に促進され、著しい品質劣化がもたらされることになる。

【0031】環境を例にとるならば、活性酸素ラジカルを帯びたあるいは帯び易い浮遊物の存在は、生活空間や作業空間に不快臭あるいはアレルギーや炎症が生じ易い環境をもたらす、また水質変化が促進される。

【0032】これらの例の様なダメージは、活性酸素ラ

ジカルの関与が無くても起こり易いものが多いが、しかしながら活性酸素ラジカルが関与した場合には殆どにおいて大きく促進され、経時変化において加速度的に増大する点で、関与が無い場合とは異なる。

【0033】活性酸素ラジカルがダメージ増加に関与している場合には、従来タイプの酸化防止剤、老化防止剤、品質劣化防止剤、腐敗防止剤、汚濁防止剤、消臭剤および鮮度保持剤では満足に防止あるいは抑制することは困難になり、本発明による活性酸素ラジカル除去方法およびその機能を持たせた組成物が必要となる。

【0034】本発明による組成物および活性酸素ラジカル除去方法は、従来の活性酸素ラジカルスカベンジャー使用と比べ極めて少ない使用量にて大きな効果を発揮することから、高い安全性と除去効率を有し、従来品では解決困難であった使用量が多いことに基づく溶解性不良や不溶化、香味や色調の低下、物性の破壊、高コスト化、二次感染の心配など、使いにくくて用途が限定されるといった多くの課題が解消可能である。

【0035】本発明による活性酸素ラジカル除去方法は、以下の実施例において示すように、pHによる影響が少ないため、酵素や抗酸化剤等のような場合とは異なって、酸性からアルカリ性に至るまで幅広く応用でき、しかも室温で高い効果を発揮することにより、食品分野や医薬品分野を初めとする広範囲の分野において産業上極めて有用である。

【0036】

【発明の実施の形態】本発明において実施の対象となる活性酸素ラジカルは、その消失の反応が光子として計測され前記関係式に従うものであれば全て対象となる。すなわち、スーパーオキシド（ $\cdot O_2^-$ ）、ヒドロキシラジカル（ $HO\cdot$ ）、過酸化水素（ H_2O_2 ）、一重項酸素（ 1O_2 ）に限定されず、ヒドロペルオキシラジカル（ $HOOO\cdot$ ）、ペルオキシラジカル（ $LOOO\cdot$ ）、アルコキシラジカル（ $LO\cdot$ ）などを含めた広い意味での活性酸素ラジカル全てが本発明の対象となる。

【0037】本発明において用いられる活性酸素ラジカルスカベンジャーの例として、カテキン類、タンニン・ポリフェノール類、アントシアニン類、フラボノイド類、サポニン類、およびこれらの各関連成分が挙げられる。これらの成分は植物に分布し、漢方生薬や民間薬、西洋ハーブ、植物性食品（豆類・穀類・野菜・果実など）、動物用エサ（牧草・糠など）に少なからず含まれている。また、弱いながらもこれらの成分の多くが単独でラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用を示すことが確認されている。以下に各成分について説明する。

【0038】（１）カテキン類およびそれらの関連成分：カテキン類は、 $C_6-C_3-C_6$ にフェノール性水酸基を複数持つフラバン-3-オール骨格の物質群である。かつて茶タンニンと呼ばれて他のポリフェノール化

化合物と同類にされていたものが独立した一群に分類されたものであり、広義には、大分類でのフラボノイド化合物中におけるフラバノール (Flavanol) 類に該当する。

【0039】ツバキ科植物の中でも茶の葉に多種多様に含まれており (緑茶では10~15%含)、特に茶カテキン類といわれて他由来と区別されることがある。リンゴ、うめ、ぶどう、オリーブなど一部の果実 (渋味強い未熟果に多い)、カカオ、ホップなどに、また生薬ではアセンヤク (阿仙薬)、ダイオウ (大黄)、ケイヒ (桂皮) などに、比較的多く含まれている。

【0040】カテキン類における代表的な成分は、カテキン、カテキングレート、エピカテキン、エピカテキングレート、エピガロカテキン、エピガロカテキングレート、ガロカテキン、ガロカテキングレートの8種類であるが、いずれにおいてもラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用を示すことが確認されている。

【0041】カテキン類の加水分解でB環部分が遊離した没食子酸 (gallic acid) などガレート類においても、ラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用が認められている。

【0042】カテキン類およびそれらの関連成分のいずれもが、本発明の活性酸素ラジカルスカベンジャーに包含される。

【0043】(2) タンニン・ポリフェノール類およびそれらの関連成分: タンニン類は、没食子酸またはその誘導体にフェノール化合物が種々結合したもので、ポリフェノール化合物における主要物質群であり、加水分解性タンニン (hydrolysable tannin) と縮合型タンニン (condensed tannin) とに大別される。

【0044】加水分解性タンニンは、加水分解により没食子酸やこの2分子重合のエラグ酸を生成するもので、カシ・ヌルデの虫こぶより得られる没食子や五倍子のタンニン (糖1分子に没食子酸やエラグ酸が最大5箇所結合; 50~70%含)、柿渋タンニン (没食子酸とフロログルシンが結合したシブオール; 柿渋中1~2%含) などがその代表例であり、ラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用が主要成分で確認されている。

【0045】縮合型タンニンは、フラバン-3-オール骨格を持ったカテキン類が縮重合 (多くはおおよそ数分子~数十分子) したもので、食品では茶葉やりんご (特に未熟果) などに、また生薬ではゲンノショウコ、ウワウルシ (クマコケモモ)、ケイヒ、チョウジなどに多く含まれ、ラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用が主要成分で確認されている。

【0046】タンニン・ポリフェノール類およびそれらの関連成分のいずれもが、本発明の活性酸素ラジカルスカベンジャーに包含される。

【0047】(3) アントシアニン類およびそれらの関

連成分: アントシアニン類は、 $C_6-C_3-C_6$ 骨格からなるアントシアニン (フラビリウム化合物) をアグリコン (非糖質成分) とし、これに種々の糖類 (主に、グルコース、ガラクトース、アラビノース) が結合した配糖体で、主として花・果実・葉に多量に存在し、pH等により赤~紫~青~黒紫色を呈する水溶性植物色素である。広義には、フラボノイド化合物中の一類に分類される。

【0048】アグリコンの種類により、シアニン配糖体 (シアニン、シソニン、クリサンテミン他)、デルフィニジン配糖体 (ナスニン、ヒアシン、ベリラミン他)、ペラルゴニジン配糖体 (ペラルゴニン、フラガリン他)、マルビジン配糖体 (オエニン、ネグレチン他) の4系統が主要なアントシアニン類である。

【0049】ラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用が各々の主要成分で確認されている。

【0050】アントシアニン類およびそれらの関連成分のいずれもが、本発明の活性酸素ラジカルスカベンジャーに包含される。

【0051】(4) フラボノイド類およびそれらの関連成分: フラボノイド類は、 $C_6-C_3-C_6$ 骨格からなるフラボン構造の化合物 (クロモン誘導体) で、遊離体や配糖体として各種植物のほぼ全組織に存在し、pH等により無色~淡黄色を呈する水溶性植物色素である。広義にはフラボノイド化合物中の一類に分類される。

【0052】フラボン系 (ルテオリン、アピゲニン他)、イソフラボン系 (ゲニスチン、ダイゼイン他)、フラバノン系 (ヘスペリジン、ナリンゲニン、シトロネチン他)、フラボノール系 (ルチン、ケルセチン、ミリセチン、ケンフェロール他)、フラバノール系 (ジヒドロケルセチン他) の5系統が主要なフラボノイド類である。

【0053】ラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用が各々の主要成分で確認されている。

【0054】フラボノイド類およびそれらの関連成分のいずれもが、本発明の活性酸素ラジカルスカベンジャーに包含される。

【0055】(5) サポニン類およびそれらの関連成分: サポニン類は、多くの場合、トリテルペノイド系およびステロイド系のアグリコン (サポゲニン) からなる配糖体をいい、他の配糖体と区別して分類に用いられる。

【0056】トリテルペノイド系サポニンは、植物に広く分布し、溶血毒作用の微弱なものが多く、大部分のサポニンがこの系に属する。食品ではダイズ、アズキ、インゲン、ホウレンソウ、サトウダイコンなど、また生薬ではキキョウ (根)、カンゾウ (根茎)、セネガ (ヒメハギ類; 根)、キラヤ (樹皮) などに含まれるものがよく知られている。

【0057】ステロイド系サポニンは、ユリ科 (240属4,000種)、ヤマノイモ科 (10属650種)、

ゴマノハグサ科ジギタリス属(40種)の植物に多くが偏在し、溶血毒作用や強心作用など劇的薬理作用の強いものが多い。これらの植物のうち、食品ではナガイモ、食用ユリ(オニユリ鱗茎)、ニラ、ネギ、ラッキョウ、ニンニクなど、その含量が極めて微量でありアルカロイドなど他に問題のないものが食用とされる。生薬では劇的薬理作用の活用例が多く、ジギタリス(葉)、オニドコロ(根茎)、サルサ(根)、チモ(ハナスゲの根)などに含まれるものがよく知られている。

【0058】ラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用が各々の主要成分で確認されている。

【0059】サポニン類およびそれらの関連成分のいずれもが、本発明の活性酸素ラジカルスカベンジャーに含まれる。

【0060】本発明において用いられる、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分の例として、ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類、アミノ酸・ペプチド類、およびこれらの各関連成分が挙げられる。これらの成分は動物、植物、微生物に広く存在する。これらの成分は、単独でのラジカルスカベンジャー作用あるいは抗酸化作用は殆ど無〜微弱であったにもかかわらず、上記の活性酸素ラジカルスカベンジャーと組合せることによって、ラジカルスカベンジャー作用の大きな増加または促進を示した。以下にこれらの成分について説明する。

【0061】(1) ウロン酸類(uronic acids)およびそれらの関連成分：ウロン酸は、還元性カルボニル基とカルボキシル基を持つ糖の誘導体の総称である。D-グルクロン酸、D-ガラクトン酸、D-マンヌロン酸、L-イズロン酸などが天然に存在する代表的なものである。

【0062】更に、これらの塩類(-Na、-K、-Ca、-Mg塩など；例えば、D-グルクロン酸ナトリウム)、アミド態(-NH₂；例えば、D-グルクロン酸アミド)、ラクトン体(1, 4-モノ・ラクトン、6, 3-モノ・ラクトン、1, 4-6, 3-ジラクトンなど；例えば、D-グルクロノラクトン)、糖酸類(例えば、D-グルコ糖酸、D-グルコ糖酸ラクトン、L-グルロン酸、L-グルノ-γ-ラクトン)、オリゴおよびポリウロン酸(酸性オリゴ糖、酸性多糖；例えば、ペクチン酸の骨格成分であるポリ-D-ガラクトン酸、昆布など褐藻類の主成分でL-グルクロン酸とD-マンヌロン酸からなるアルギン酸)などがある。

【0063】ウロン酸類およびそれらの関連成分のいずれもが、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する本発明の特定成分に含まれる。

【0064】(2) ウロナイド類(uronides)およびそれらの関連成分：ウロナイドは、ウロン酸とアグリコン(非糖質成分)あるいは他の糖類が結合したも

のである。それらの生合成はUDP-D-グルクロン酸が前駆体となり、酵素的触媒反応によって、D-グルクロン酸残基はアグリコンなどとウロナイド結合したり、またD-マンヌロン酸など他のウロン酸へ異性化が行われている。

【0065】多環式化合物をアグリコンとするグルクロン酸配糖体(例えば、フラボノイド系やトリテルペノイド系グルクロナイド)、D-グルクロン酸およびその重合体とヘミセルロースなど他の糖鎖とが結合した植物ガムあるいは粘質物(例えば、アラビアガムなどのポリウロナイド多糖)は、野菜、種実、生薬など植物界に広く分布する代表的なウロナイドである。

【0066】ウロナイド類およびそれらの関連成分のいずれもが、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する本発明の特定成分に含まれる。

【0067】(3) ムコ多糖類(mucopolysaccharides)およびそれらの関連成分：ムコ多糖は、骨、軟骨、皮膚、細胞膜、血管、臓器、コラーゲンなど結合組織を主体として動物界に広く存在し、ヘキソサミン(N-アセチル-D-グルコサミンまたはN-アセチル-D-ガラクトサミン)と、一部例外を除く殆どがウロン酸(D-グルクロン酸またはL-イズロン酸)とからなる二糖繰り返し構造を主体とした多糖である。大部分は、ヘキソサミンに結合の硫酸基やウロン酸のカルボキシル基によって酸性を呈し、酸性ムコ多糖とも呼ばれる。

【0068】ウロン酸を構成糖とする最も典型的なムコ多糖には、ヒアルロン酸(D-グルクロン酸+N-アセチル-D-グルコサミン)、コンドロイチン硫酸(D-グルクロン酸+N-アセチル-D-ガラクトサミン)、デルマタン硫酸(L-イズロン酸+N-アセチル-D-ガラクトサミン)、ヘパラン硫酸(D-グルクロン酸+N-アセチル-D-グルコサミンが主体)、ヘパリン(D-グルクロン酸+N-アセチル-D-グルコサミンとL-イズロン酸+N-アセチル-D-グルコサミンの繰り返し構造)の5種類があり、これらでムコ多糖の大部分を占めている。

【0069】動物生体中におけるムコ多糖は、殆どが蛋白質および一部はペプチド結合として存在し(プロテオグリカンおよびペプチドグリカン)、また酵素分解されてムコオリゴ糖などになったりもする。

【0070】ウロン酸を構成糖とするムコ多糖類およびそれらの関連成分のいずれもが、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する本発明の特定成分に含まれる。

【0071】(4) アミノ酸・ペプチド類およびそれらの関連成分：アミノ酸には、蛋白質・ペプチドの形成にあずかる構成アミノ酸23種、およびそれらを形成せず

に遊離状態または特定化合物の構成成分としてだけ存在

する特殊アミノ酸 20 数種、合わせて約 50 種ほどが知られている。本発明において、グリシンやアラニンなど各種構成アミノ酸、またオルニチン、シトルリン、γ-アミノ酪酸を代表例とした特殊アミノ酸について、各々を活性酸素ラジカルスカベンジャーの成分と組合せると、いずれの場合にも強いラジカルスカベンジャー作用を発揮し、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する特定成分としての高い機能がこれらアミノ酸において確認された。β-アラニンやベタインなど他の特殊アミノ酸につ

いても同様に、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する特定成分としての高い機能が確認された。

【0072】活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する特定成分としてのラジカルスカベンジャー作用発揮において、構成アミノ酸と特殊アミノ酸、各々における個々のアミノ酸、また酸性・中性・アルカリ性の各環境 pH 間で、明らかな優劣の差異が見られなかったことから、アミノ酸としての共通基本構造であるカルボキシル基あるいはアミノ基や両性電解質の性質が大きく関与し、個々によって異なる側鎖の性質はあまり寄与しないと見られた。

【0073】この共通基本構造に由来する性質は、2～数個位のアミノ酸からなるオリゴペプチドであれば十分に期待可能と見られる。また構成アミノ酸の種類と立体的構造によっては、それ以上のアミノ酸が連なったペプチドにおいても可能性を有すると見られる。

【0074】アミノ酸・ペプチド類およびそれらの関連成分のいずれもが、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する本発明の特定成分に包含される。

【0075】上記の活性酸素ラジカルスカベンジャーおよび活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割を有する特定成分の組合せにより、ラジカルスカベンジャー作用は著しく増加（または促進）され、活性酸素ラジカルスカベンジャーのみの場合と比べても、1,000 倍以上（フォトン定数 k 値で比較／log k 値で換算すると 3 以上の差）もの効果を発揮させることが、本発明において可能であった（測定はフォトン解析法による）。

【0076】本発明による方法の実施に当たっては、あらかじめ活性酸素ラジカルスカベンジャーと活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分であるウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選

る 1 種または 2 種以上の物質のいずれか一方または双方を補充して前記の関係式 $[P] = k [X] [Y] f$ (Z) を満足させるものとした、いわゆる補完方式によっても遂行可能である。

【0077】本発明で用いられる活性酸素ラジカルスカベンジャーとウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質、およびこれらの組み合わせについては、処理を必要とする活性酸素ラジカルの種類、およびその消失反応がフォトンとして計測され前記関係式に従うものの中から、産業利用分野に応じて選ばれるものであり、特に限定されない。またフォトン定数 k は、ラジカルスカベンジャー作用促進効果の大小を反映するものであるが、活用目的や対象など個々のケースによって求められる基準が異なること等から、全て一律に下限値や上限値を設定することは適切でない。

【0078】なお、抗酸化剤として一般に知られているビタミン C やビタミン E は、活性酸素ラジカルスカベンジャーとして用いても、あるいは活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分として用いても、フォトンの放出は認められず、従って少なくとも前記の関係式を満たすフォトンタイプの活性酸素ラジカルスカベンジャーではなかった。

【0079】

【発明の効果】本発明における活性酸素ラジカルスカベンジャーとウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる 1 種または 2 種以上の物質との組合せ方法および組成物は、活性酸素ラジカルに対して、酸性からアルカリ性に至るまで広い pH 範囲において、しかも室温にて、優れた除去機能を発揮する。

【0080】それ故、本発明の組成物および活性酸素ラジカル除去方法は、ヒト、ヒト以外の動物、植物、発酵微生物、培養細胞などの生命体での生理機能活動において活性酸素ラジカルの関与により誘起され易い酸化的ストレスや老化など各種障害の予防あるいは改善に、また飼育、養殖、栽培、発酵、培養、加工、保存などにおいて生産物やそれらの生産過程における変質、分解、腐敗、汚濁、異臭化、鮮度低下、効力減退、能率低下などの品質劣化や活性低下の防止が求められている分野において、特に利用が期待される。

【0081】従って、食品、飼料、医薬医療用品、医薬部外品、化粧品、洗浄剤、消臭剤、衛生用品、衣料用品、鮮度保持用資材や包装容器、動物飼育、水産養殖、植物栽培、発酵や培養などの各産業分野において最も有用性が見込まれる。

【0082】更に、本発明の有用性が発揮されやすくまた活用しやすいよう利用者へ提供できる具体的な形態について、幾つかの例をこれら産業における商品群の中か

10

20

30

40

50

ら示すならば、以下の様である。

【0083】たとえば、食品分野であれば、高度の活性酸素ラジカル除去機能を備えた食品添加物として加工食品の品質や日持ち向上および生鮮食品における鮮度保持に、また本発明の組成物を有効成分とする特定保健用食品や健康食品を提供することで健康維持および疾病予防に、各々活用できる。飼料分野では、飼料用添加物やペットフードとして健康管理および飼料効率や生産性向上に利用できる。

【0084】薬事法第二条各項で規定するところの医薬品、医薬部外品、化粧品および医療用具の分野においては、医薬品添加物や化粧品添加物などとして製剤の品質向上へ役立てることができるばかりでなく、疾病の治療と予防、体調体質の改善、美容の維持向上、衛生状態や快適環境確保のための有効成分とすることができる。このうち医薬品においては、活性酸素ラジカルの関与により発症あるいは回復遅延や症状悪化がもたらされる疾病の医療用治療薬、また一般用では滋養強壮保健薬、胃腸薬、感冒薬、口腔鼻炎用薬および外用薬の分野で、特に有用性が期待される。医薬部外品については、薬用歯磨き剤、口中清涼剤、薬用化粧品、毛髪用剤、浴用剤、腋臭防止剤および生理処理用品の分野で、また化粧品では、頭髪用化粧品類、洗髪用化粧品類、化粧水類、クリーム乳液類、パック類、ファンデーション類、口紅類、洗顔料類、石けん類、歯磨き類の分野において、有用性が高い。

【0085】以上の様な例以外にも、本発明の組成物および活性酸素ラジカル除去方法を具体的形態にて提供することが種々可能であり、本発明の実施形態および有用性が上記例に限定されるものではない。

【0086】

【実施例】以下に実施例により本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例によって何ら限定されるものではない。

【0087】なお、各実施例のいずれにおいても、以下に記載する測定条件および解析方法に従った。

【0088】1. 濃度：

(1) 活性酸素ラジカル（ここでは H_2O_2 ）・・・測定時の終濃度は0.01～20mM

(2) 活性酸素ラジカルスカベンジャー（ここでは（-）-エピガロカテキン）・・・測定時の終濃度は0.01～20mM

(3) 活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分（ここではアミノ酸類、糖類）・・・測定時の終濃度は0.01～20mM

これら3者を各種濃度にて種々組合せ、測定に供した。

【0089】2. pH：

(1) 酸性は、pH2.6の50mMクエン酸-HCl緩衝液（50%メタノール含有）

(2) 中性は、pH7.0の25mMリン酸緩衝液（50%メタノール含有）

(3) アルカリ性は、pH9.0の25mM $Na_2B_4O_7-HCl$ 緩衝液（50%メタノール含有）

いずれも、（-）-エピガロカテキン（以下、「EGC」と略す）の完全な溶解を保つためにメタノールを50%含有させ（用いた活性酸素ラジカルや活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分はメタノールなしでも完全に溶解）、また溶解液を精密濾過（ポアサイズ0.22ミクロン）して測定妨げとなる混入浮遊物を除去し高度の澄明性を確保した。

【0090】3. 温度：いずれの場合も、室温（23℃で一定の場所）にて測定した。

【0091】4. フォトン強度Pの測定方法：反応混合液から微弱発光するかのように放出されるフォトン、フィルター付フォトン計測スペクトロフォトメーター

（東北電子工業（株）CLD-110型）を用いて測定した。この装置に、マイクロポンプ（Waters社510型）とマイクロインジェクター（Waters社U6K型）を接続して、フローセル中で活性酸素ラジカル、活性酸素ラジカルスカベンジャー、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分（ウロン酸類、ウロナイド類、ムコ多糖類およびアミノ酸・ペプチド類から選ばれる1種または2種以上の物質）を混合せしめ、直ちに液流を停止させて混合直後よりのフォトン放出を経時的に測定できるようにした。格子散乱光は、同測定システムにおけるイメージセンサー付光電管で検出した。フォトン放出は、それが波長300～650nmの広い範囲で観察されることより、これら波長全域から検知されるカウント数を自動積算し、放出最大ピーク値をフォトン強度Pとした。

【0092】

【実施例1】活性酸素ラジカルとして H_2O_2 、活性酸素ラジカルスカベンジャーとしてEGC、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分としてアミノ酸類の3者からなる組合せ各々において、酸性、中性、アルカリ性の各pHでのフォトン定数kを前記に従って測定した。

【0093】アミノ酸類（共にL-型）は、グリシン、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、ホモセリン、スレオニン、メチオニン、システイン、フェニルアラニン、プロリン、ヒスチジン塩酸塩、アルギニン塩酸塩、オルニチン塩酸塩、シトルリン、γ-アミノ酪酸の16種類を用いた。

【0094】16種類のアミノ酸類は、これら成分のみ、および H_2O_2 不在下でのEGCとの組合せでは、いずれもフォトン放出が観察されなかった。また、EGC不在下での H_2O_2 との組合せにおいても、フォトン放出

は微弱でしかなかった。しかしながら、3者を組合せると光子が強く発現し、活性酸素ラジカスカベンジャー作用の大きな促進が認められた。

【0095】表1に、pH 2.6、7.0、9.0各々における光子定数kを示した。16種類のアミノ酸類いずれでも、各pHで3付近(但しlog k値)の高い値を示した。このことから、活性酸素ラジカル、活性酸素ラジカスカベンジャー、活性酸素ラジカスカ

H_2O_2 (活性酸素ラジカル種X)、EGC (触媒種Y)、

各種アミノ酸類(受容種Z)の組合せにおける、光子定数k

($M^{-2}s^{-1}$ counts、pH 2.6、7.0または9.0、25℃) :

組 合 せ			log k 値 (kは光子定数)		
X	Y	Z	pH 2.6	pH 7.0	pH 9.0
H_2O_2	EGC	グリシン	3.81	2.81	3.24
H_2O_2	EGC	アラニン	2.99	2.87	3.46
H_2O_2	EGC	ロイシン	3.20	3.20	3.66
H_2O_2	EGC	イソロイシン	3.17	3.18	3.67
H_2O_2	EGC	バリン	3.14	3.15	3.83
H_2O_2	EGC	ホモセリン	3.07	3.10	3.57
H_2O_2	EGC	スレオニン	3.14	3.18	3.85
H_2O_2	EGC	メチオニン	3.18	3.18	3.55
H_2O_2	EGC	システイン	2.69	3.63	3.49
H_2O_2	EGC	フェニルアラニン	3.04	3.31	3.60
H_2O_2	EGC	プロリン	3.10	3.20	3.65
H_2O_2	EGC	ヒスチジン塩酸塩	3.20	3.46	
H_2O_2	EGC	アルギニン塩酸塩	3.38	3.40	
H_2O_2	EGC	オルニチン塩酸塩	3.20	3.25	3.48
H_2O_2	EGC	シトルリン	3.32	3.31	3.75
H_2O_2	EGC	γ-アミノ酪酸	2.92	3.09	3.48
H_2O_2		グリシン	VW	VW	VW
H_2O_2		アラニン	VW	VW	VW
H_2O_2		ロイシン	VW	VW	VW
H_2O_2		イソロイシン	VW	VW	VW
H_2O_2		バリン	VW	VW	VW
H_2O_2		ホモセリン	VW	VW	VW
H_2O_2		スレオニン	VW	VW	VW
H_2O_2		メチオニン	VW	VW	VW
H_2O_2		システイン	VW	VW	VW
H_2O_2		フェニルアラニン	VW	VW	VW
H_2O_2		プロリン	VW	VW	VW
H_2O_2		ヒスチジン塩酸塩	VW	VW	
H_2O_2		アルギニン塩酸塩	VW	VW	
H_2O_2		オルニチン塩酸塩	VW	VW	VW
H_2O_2		シトルリン	VW	VW	VW
H_2O_2		γ-アミノ酪酸	VW	VW	VW

表中、VWは光子放出が微弱 (Very Weak / log k が1未満)、NDは検出されず

(Not Detected / 0〜ほぼ0) をあらわす。

〈略 称〉 EGC : (-)-エピガロカテキン。

【0097】

【実施例2】 H_2O_2 (活性酸素ラジカル)、EGC (活性酸素ラジカスカベンジャー)、中性および酸性糖類 (活性酸素ラジカスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分) の3者からなる組合せ各々において、酸性、中性、アルカリ性各pHでの光子定数kを、実施例1と同様にして測定した。

【0098】糖類 (共にD-型) は、グルコース、シュ 50

ベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分の3者から構成される反応混合液系において、16種類のアミノ酸類は、活性酸素ラジカスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分として作用していると認められた。

【0096】

【表1】

ークロース、グルクロン酸、グルクロン酸ナトリウム、グルクロン酸アミド、グルクロノラク톤の6種類を用いた。

【0099】中性糖であるグルコースおよびシュクロースでは、これら成分のみ、EGC不在下での H_2O_2 との組合せ、 H_2O_2 不在下でのEGCとの組合せ、また3者の組合せのいずれにおいても、光子放出は観察されず、活性酸素ラジカスカベンジャー作用は認められなかった。

【0100】酸性糖（ウロン酸ともいう）およびその関連成分であるグルクロン酸、グルクロン酸ナトリウム、グルクロン酸アミド、グルクロノラクトンでは、これら成分のみ、 H_2O_2 不在下でのEGCとの組合せでは、フォトン放出が観察されなかった。また、EGC不在下での H_2O_2 との組合せにおいても、フォトン放出は微弱でしかなかった。しかしながら、3者を組合せるとフォトンが強く発現し、活性酸素ラジカルスカベンジャー作用の大きな促進が認められた。

【0101】表2に、pH2.6、7.0、9.0各々におけるフォトン定数kを示した。4種類の酸性糖およびその関連成分いずれでも、各pHで3付近（但し10

gk値）の高い値を示した。

【0102】このことから、活性酸素ラジカル、活性酸素ラジカルスカベンジャー、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分の3者から構成される反応混合液系において、用いた4種類の酸性糖およびその関連成分はいずれも、活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分として作用していると認められた。

【0103】

【表2】

H_2O_2 （活性酸素ラジカル種X）、EGC（触媒種Y）、

各種中性および酸性糖類（受容種Z）の組合せにおける、フォトン定数k

($M^{-2}s^{-1}$ counts、pH 2.6、7.0 または 9.0、23℃) :

組 合 せ			log k 値 (kはフォトン定数)		
X	Y	Z	pH 2.6	pH 7.0	pH 9.0
H_2O_2	EGC	グルクロン酸	3.21	3.32	3.42
H_2O_2	EGC	グルクロン酸・Na	3.15	2.97	3.25
H_2O_2	EGC	グルクロン酸アミド	3.20	3.09	3.32
H_2O_2	EGC	グルクロノラクトン	3.15	2.99	3.25
H_2O_2	EGC	グルコース	ND	ND	ND
H_2O_2	EGC	シュクロース	ND	ND	ND
H_2O_2		グルクロン酸・Na	VW	VW	VW
H_2O_2		グルクロン酸アミド	VW	VW	VW
H_2O_2		グルクロノラクトン	VW	VW	VW
H_2O_2		グルコース	ND	ND	ND
H_2O_2		シュクロース	ND	ND	ND

表中、VWはフォトン放出が微弱 (Very Weak / log k が1未満)、NDは検出されず (Not Detected / 0〜ほぼ0) をあらわす。

〈略 称〉 EGC: (-)-エピガロカテキン。

表1および表2において、「触媒種Y」は活性酸素ラジカルスカベンジャーを意味し、「受容種Z」は活性酸素ラジカルスカベンジャーから受け渡された活性酸素ラジカルを処理する役割の特定成分を意味する。

フロントページの続き

(51) Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 45/06

45/06

B 0 1 J 20/22

Z

B 0 1 J 20/22

C 0 9 K 3/00

S

C 0 9 K 3/00

A 6 1 K 37/02